Rischio biologico

Biosicurezza

Nicoletta Vonesch

Dipartimento Medicina del Lavoro

ISPESL
Istituto Superiore per la Prevenzione
e la Sicurezza del Lavoro

Interventi di contenimento del rischio biologico

ridurre o eliminare esposizione a potenziali agenti infettanti

- operatori di laboratorio
- altre persone
- ambiente esterno

- formazione di aerosol
- lavoro con grandi volumi e/o concentrazioni di microrganismi
- eccessivo affollamento di persone o attrezzature nel laboratorio
- infestazioni da roditori e insetti
- accesso a persone non autorizzate

Buone pratiche microbiologiche

Barriere primarie: equipaggiamenti e apparecchi di sicurezza

Barriere secondarie

Buone pratiche microbiologiche

Definizione di un manuale operativo con procedure per minimizzare rischio infettivo

ISPESL - Nicoletta Vonesch

Barriere primarie

Protezione del personale e dell'ambiente confinato del laboratorio

- vaccinoprofilassi (se disponibile)
- norme comportamentali tecniche (tecniche e attrezzature in grado di ridurre produzione di aerosol, uso corretto di cappe biohazard…, uso sistemico di DPI…
- norme comportamentali igieniche

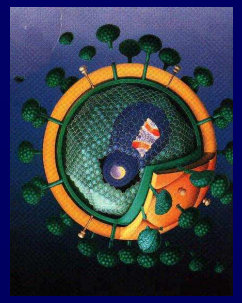
Barriere secondarie

Protezione ambiente esterno al laboratorio

(aria in uscita, rifiuti liquidi e solidi…)

misure costruttive e procedurali

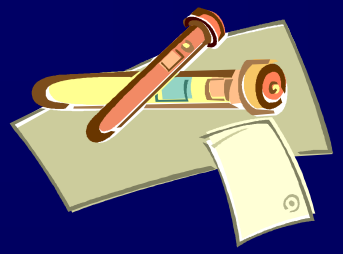
- separazione area di lavoro da accesso al pubblico
- filtrazione dell'aria
- strumenti per decontaminazione
- mezzi per lavaggio delle mani



DM 28 settembre 1990

Norme di protezione dal contagio professionale da HIV nelle strutture sanitarie ed assistenziali pubbliche e private

Tutti gli operatori nelle strutture sanitarie ed assistenziali... debbono adottare misure di barriere idonee a prevenire l'esposizione della cute e delle mucose nei casi in cui sia prevedibile un contatto accidentale con il sangue o con altri liquidi biologici



Sangue

Liquido seminale

Secrezioni vaginali

Liquidi: **cerebrospinale, sinoviale, pleurico, peritoneale, pericardico, amniotico**

DM 28 settembre 1990

Il trasporto ai laboratori di campioni di sangue, liquidi biologici e tessuti deve avvenire tramite l'utilizzazione di appositi contenitori idonei ad evitare perdite

continua…

Art. 2 – Precauzioni specifiche per i laboratori

- *Il personale… deve adottare idonee misure protettive durante la manipolazione di campioni di sangue e degli altri materiali biologici…*

- *Al termine delle attività il personale deve decontaminare i piani di lavoro con un disinfettante chimico di riconosciuta efficacia sull'HIV.*

continua…

- *La gestione dei campioni clinici… effettuata in modo da minimizzare la diffusione di materiali patologici per limitare la conseguente possibilità di contaminazione dell'operatore e dell'ambiente*

- *Le attività che comportano la produzione di virus in concentrazioni elevate debbono essere eseguite in laboratori di sicurezza livello 3*

continua…

- *Per il pipettamento è obbligatoria l'adozione di sistemi di tipo meccanico*

- *Le apparecchiature debbono essere decontaminate prima di qualsiasi intervento di manutenzione o riparazione*

Tipo di attività

Livelli di sicurezza biologica

Applicazione combinata di misure di protezione di vario grado

- **Laboratorio di base** - livello di biosicurezza 1 *per microrganismi di classe 1*
- **Laboratorio di base** - livello di biosicurezza 2 *per microrganismi di classe 2*
- **Laboratorio di sicurezza** - livello di biosicurezza 3 *per microrganismi di classe 3*
- **Laboratorio di massima sicurezza** - livello di biosicurezza 4 *per microrganismi di classe 4*

BSL 1

Agenti che non comportano rischi per il personale e la comunità

Buona pratica di laboratorio:

- utilizzo di sistemi meccanici di pipettamento
- lavaggio delle mani
- limitato accesso durante il lavoro
- non mangiare, bere o fumare
- evitare formazione di aerosol
- decontaminare le superfici almeno 1 volta/die
- decontaminare i rifiuti
- attuare programmi di controllo di insetti e roditori

Applicabile a laboratori didattici in cui si manipolino microrganismi di classe 1

BSL 2

Agenti a moderato rischio per il personale e la comunità

BSL 1

+

- arredi e finiture facili da pulire
- **cappa biologica di sicurezza** per qualsiasi manipolazione che comporti **rischio di aerosol**

Applicabile ai laboratori clinici, diagnostici e di ricerca in cui si manipolino microrganismi di classe 2

ALLEGATO XLVII

Misure e livelli di contenimento da rispettare per utilizzo di agenti biologici di classe 2, 3, 4

LABORATORI DI BASE

Progettazione

- ✓ **Ampi spazi**
- ✓ **Muri, soffiti e pavimenti lisci, facili da pulire, impermeabili ai liquidi, resistenti ad agenti chimici e disinfettanti**
- ✓ **Pavimenti antiscivolo**
- ✓ **Tubi e tubature a vista ben discosti dal muro**
- ✓ **Superfici orizzontali evitate quanto più possibile**

continua…

- ✓ **Illuminazione adeguata**
- ✓ **Superfici dei banconi uniti ai muri con sostanza sigillante, impermeabili all'acqua e resistenti a disinfettanti, acidi, alcali, solventi organici e calore moderato**
- ✓ **Mobili robusti, spazi aperti fra e sotto banconi, armadi e attrezzature accessibili per la pulizia**

continua…

- ✓ **Spazi adeguati per riporre materiali di uso frequente**
- ✓ **Lavabi dotati di acqua corrente posti preferibilmente vicino alla porta**
- ✓ **Porte anti-incendio in grado di chiudersi da sole e pannello di ispezione**
- ✓ **Autoclave disponibile nello stesso edificio del laboratorio**

continua…

- ✓ **Assenza di requisiti specifici per l'areazione. In assenza di areazione meccanica finestre devono essere apribili, preferibilmente dotate di reti contro gli insetti**
- ✓ **Adeguati spazi e strutture per utilizzare e conservare in modo sicuro solventi, materiali radioattivi, gas liquidi e compressi**

continua…

- ✓ **Sistemi di sicurezza: anti-incendio, impianto elettrico di emergenza, docce di emergenza, dotazioni per il lavaggio degli occhi**
- ✓ **Fornitura elettrica adeguata e affidabile e illuminazione di emergenza che permetta uscita dal laboratorio**
- ✓ **Generatore di emergenza (per incubatori, cappe, congelatori…)**

Attrezzature

- Propipette
- Inceneritori per anse
- Provette e bottiglie con tappo a vite
- Pipette pasteur in plastica
- Cappe di sicurezza biologica

Regole pratiche

- **Simbolo di rischio biologico esposto sulle porte se si lavora con microrganismi di gruppo 2**
- **Divieto di pipettare a bocca**
- **Divieto di mangiare, bere, fumare, conservare cibo e applicarsi cosmetici**

continua…

- **Divieto di portare oggetti alla bocca**
- **Laboratorio va tenuto pulito, in ordine, sgombro da oggetti non pertinenti al lavoro**
- **Superfici di lavoro decontaminate dopo versamento di materiali potenzialmente pericolosi e alla fine di ogni giorno di lavoro**

continua…

- **Lavaggio delle mani dopo aver maneggiato materiali ed animali infetti e prima di lasciare il laboratorio**
- **Procedure tecniche atte a minimizzare formazione di aerosol e goccioline.**
- **Idonei DPI e indumenti protettivi (conservare in armadi separati)**

continua…

- **Nelle aree di lavoro ammesse soltanto persone necessarie, adeguatamente informate e formate**
- **Porte del laboratorio tenute chiuse durante il lavoro**
- **Programma di controllo di roditori ed artropodi**
- **Utilizzo di cannule al posto di aghi se possibile**

LABORATORI DI SICUREZZA

BSL 3

Agenti ad elevato rischio per il personale e basso rischio per la comunità

BSL 2

+

Sistema di ventilazione per creare **pressione negativa** rispetto alle aree circostanti

Applicabile ai laboratori in cui si manipolino microrganismi di classe 3

Progettazione

- ✓ **Separato dalle aree dell'edificio aperte a visitatori esterni**
- ✓ **Ingresso tramite vestibolo *(sistema di ingresso a doppia porta)***
- ✓ **Accesso studiato per prevenire ingresso di insetti ed altri artropodi**

continua…

- ✓ **Porte devono chiudersi da sé e poter essere chiuse a chiave**
- ✓ **Superfici di pavimenti, muri e soffitti resistenti all'acqua e facili da pulire. Fori per il passaggio di tubi sigillati per facilitare decontaminazione degli ambienti**

continua…

- ✓ **Sigillabile per la decontaminazione**
- ✓ **Finestre chiuse e sigillate**
- ✓ **Lavandino con rubinetto a pedale o azionabile con gomito vicino a ciascuna uscita**

continua…

- ✓ **Impianto di areazione del laboratorio con flusso d'aria dall'esterno verso l'interno**
- ✓ **Sistema con ventilazione forzata anche in ingresso** (ingresso ed espulsione dell'aria coordinati per avere sempre flusso verso l'interno)

continua…

- ✓ ***Sistema di aerazione dell'edificio:*** **aria proveniente dal laboratorio BSL 3 non deve ricircolare in altre parti dell'edificio (ricircolata e ricondizionata entro il laboratorio)**

Aria in uscita scaricata direttamente all'esterno, scarichi dotati di filtri HEPA

continua…

- ✓ **Cappe poste lontano da zone di passaggio e da correnti d'aria**
- ✓ **Aria proveniente da cappe di sicurezza biologica di classe I o II passa attraverso filtri HEPA e scaricata all'esterno direttamente o attraverso l'impianto di ventilazione dell'edificio.**
- ✓ **Nella stanza del laboratorio deve essere disponibile autoclave**

Attrezzature

Le stesse dei laboratori di base

Può essere necessaria *cappa di biosicurezza di classe III* per alcune operazioni con microrganismi di gruppo 3

Regole pratiche

- "due persone"
- Segnale di rischio biologico sulle porte deve identificare microrganismi con cui si lavora e nome del responsabile di laboratorio che controlla l'accesso

continua…

- **Indumenti di laboratorio a protezione degli abiti normali indossati nel laboratorio e decontaminati prima di essere lavati**
- **In presenza di animali infetti utilizzo di protezione respiratoria**

LABORATORI DI MASSIMA SICUREZZA

BSL 4

Agenti ad elevato rischio per il personale e per la comunità

- unità funzionale completamente isolata
- pressione negativa rispetto alle aree circostanti
- aria filtrata (HEPA) in uscita prima e in entrata
- sistema di trattamento autonomo di sterilizzazione per tutti i liquidi di scarico (compresa acqua delle docce) prima dello scarico finale
- cappe di biosicurezza di classe III o, in alternativa, di classe II (tute ventilate a pressione negativa)

Applicabile ai laboratori in cui si manipolino microrganismi di classe 4

Progettazione

- ✓ **Accesso controllato**
- ✓ **Ingresso e uscita di personale e materiali tramite vestibolo a tenuta d'aria o a doppia porta**
- ✓ **In ingresso personale deve cambiarsi interamente gli indumenti, prima di rimettere indumenti propri fare una doccia**

continua…

- ✓ ***Sistema di aerazione controllato:*** **mantenimento di pressione negativa mediante impianto meccanico, individuale, con flusso diretto verso l'interno e passante attraverso filtri HEPA, ed un sistema di scarico con filtri HEPA in uscita**

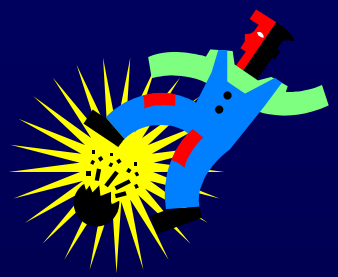
continua…

- ✓ **Decontaminazione di tutti i liquidi di scarico**
- ✓ **Disponibilità di autoclave passante a doppia apertura**

Attrezzature

- Cappe di sicurezza biologica di classe III
- Tute ventilate a pressione positiva
- Doccia chimica di decontaminazione per personale che lasci area in cui è previsto accesso con la tuta

Cappe di sicurezza biologica



AEROSOL

- **centrifugazione**
- **frantumazione**
- **miscelazione**
- **agitazione vigorosa**
- **sonicazione**

continua…

- **apertura di contenitori di materiale infetto con pressione interna diversa da quella dell'ambiente circostante**
- **inoculazione intranasale di animali**
- **raccolta di tessuti infetti da animali e uova**
- **manipolazione di forti concentrazioni o grandi volumi di materiali infetti**

Classe I

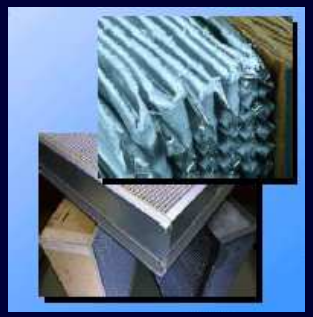
Cappa ventilata aperta frontalmente

<u>Protezione dell'operatore</u> mediante flusso di aria entrante non rimandato in circolo

<u>Protezione dell'ambiente</u> mediante filtro HEPA nel sistema di scarico

Nessuna protezione del prodotto (aria entrante non filtrata)

Filtri HEPA



- sottile foglio di fibra di vetro finemente pieghettato
- capace di trattenere 99.97% di particelle con diametro = / > 0,3 μ
- periodica manutenzione

Classe II

Cappa a flusso laminare verticale

Protezione dell'operatore

Protezione dell'ambiente

Protezione del prodotto

Classe II A

70% dell'aria ricircolata

30% dell'aria eliminata

Utilizzate per microrganismi con rischio basso o moderato, piccole quantità di agenti chimici tossici, radionuclidi in tracce

Classe II B

30% dell'aria ricircolata

70% dell'aria eliminata

Utilizzate per maggiori quantità di sostanze tossiche volatili o radioattive

Classe III

Cappa ventilata, totalmente chiusa, a tenuta d'aria e mantenuta a pressione negativa

Aria filtrata (HEPA) in ingresso e in uscita

Lavoro svolto con guanti a manica in gomma attaccati alla cappa

Barriera totale tra operatore e lavoro

Utilizzo della cappa in sicurezza

- Uso spiegato a tutti gli utenti
- Non utilizzare se non perfettamente funzionante
- Non aprire pannello di chiusura in vetro durante l'uso
- Attrezzatura e materiali all'interno ridotti al minimo e posti in fondo

continua…

- Non usare Bunsen (calore causa scompensi nel flusso di aria e può danneggiare filtri). Usare microinceneritori o se possibile anse monouso
- Tutte le operazioni devono essere eseguite nel mezzo o in fondo alla superficie di lavoro ed essere visibili dal pannello di vetro
- Passaggio di persone alle spalle dell'operatore ridotto al minimo

continua…

- Operatore non deve disturbare il flusso di aria introducendo e togliendo ripetutamente le braccia
- Lasciare sempre libere le grate di ingresso d'aria sia sul piano che sulle pareti della cappa
- Se la cappa deve essere spenta, lasciarla in azione almeno 25-30 minuti dopo la disinfezione per essere certi che tutta l'aria sia stata trattata attraverso il filtro.